

Francia y Puerto Rico, investigaciones paralelas y colaboración en aspectos de Biología Molecular y Biotecnología

Gerardo Arroyo Cruzado
Universidad de Puerto Rico
g_arroyocruz@yahoo.com

Resumen

Desde finales de los años setenta, en el laboratorio de Biología Molecular de la doctora Candelas, nos hemos dedicado a estudiar los mecanismos moleculares que regulan la síntesis de la seda en la araña *Nephila clavipes*. Estos estudios han sido llevados a cabo paralelamente con investigaciones de un grupo de Lyon que estudia la síntesis de seda en las etapas larvales de la alevilla *Bombyx mori*. Durante estos años se ha desarrollado una relación entre ambos grupos que nos ha llevado a niveles de consulta y colaboración en trabajos de Biología Molecular. Actualmente, se ha abierto una puerta para trabajar en conjunto aspectos biotecnológicos de la producción de esta proteína.

Palabras claves: *Nephila clavipes*; seda; síntesis de proteína; ARN de transferencia

Abstract

Since late seventies, in Dr. Graciela Candelas' Molecular Biology laboratory, we have been studying regulatory molecular mechanisms in silk synthesis by spider *Nephila clavipes*. These have been conducted parallel to Lyon's group research in larvae stage of moth *Bombyx mori*. During past years, both molecular biology research groups developed high level advice and collaboration relationship. Recently, an opportunity arose for teamwork within biotechnological aspect for the production of this protein.

Keywords: *Nephila clavipes*; silk; protein synthesis, transfer RNA

Estoy aquí para contarles una historia. Una historia que comenzó hace más de cinco mil años en el lejano oriente. Una historia sobre un producto de tanto valor, que para el siglo 19, la ruta por la que se mercadeaba este y otros valiosos productos, entre oriente y occidente, ya era conocida como la ruta de la seda (Fernández, 2006).

La seda es producida por la larva de una alevilla del orden Lepidoptera. La especie es *Bombyx mori* y es uno de los primeros insectos junto a las abejas en ser domesticados por los humanos. *Bombyx*, utiliza la seda para la producción del capullo

en el que este organismo lleva a cabo su metamorfosis (Scoble, 1995). Los humanos a su vez, utilizan la seda para la producción de telas de gran valor. Un capullo de *Bombyx* contiene cerca de un kilómetro de fibra de seda (Engels, 2007).

Durante la Edad Media, *Bombyx mori*, llega a Europa; y para mediados del siglo 15, varias ciudades europeas se reconocerán por la producción de tejidos de seda. Entre estas ciudades se encontraba la ciudad de Lyon en Francia (Engels, 2007).

Los biólogos moleculares por otro lado, hemos estado interesados en la seda por ser esta una de las proteínas más grandes que se conocen. La seda o fibrosina, como se le conoce científicamente, se caracteriza también por tener una gran elasticidad y resistencia. La gran cantidad de fibrosina que producen estos organismos y las características antes mencionadas de esta proteína ha llevado a los biólogos a utilizar a *Bombyx* como un sistema modelo para el estudio de los mecanismos moleculares que regulan la síntesis de esta proteína.

La Biología Molecular comienza a desarrollarse como disciplina para la década de los cincuenta del siglo 20. Luego del descubrimiento de la estructura de la molécula de ADN por James Watson y Francis Crick en 1953, se sucedieron una serie de trabajos en este campo del conocimiento. En 1956, el Dr. Arthur Kornberg aísla la polimerasa de ADN, enzima que cataliza la replicación del ADN en las células. Más adelante, en 1960, los investigadores: Jacob, Messelson y Brenner descubren el ARN mensajero que es la molécula que lleva el código para la síntesis de proteínas (Johnson, 1996).

Para esta misma fecha, los investigadores Nirenberg y Khorana descifran el código genético, y en 1963, F. Chapeville identifica las moléculas de ARN de

transferencia que mobilizan los aminoácidos durante la fabricación de proteína en la célula (Nagaraju, 2007). Estos trabajos junto a otros de igual relevancia proveyeron las piezas para el entendimiento de la maquinaria celular para la síntesis de las proteínas.

En la década del setenta, *Bombyx mori* es adoptado por varios grupos de investigadores a nivel mundial para ser utilizado como sistema modelo para el estudio de los mecanismos moleculares que regulan la síntesis de fibrosina. Entre estos grupos los más reconocidos son el del japonés, Yoshiaki Suzuki que se interesaron en aislar el ARN mensajero y el gen de la seda (Johnson, 1996), y el grupo francés compuesto por los investigadores Chavancy, Daillie y Garel (Suzuki & Brown, 1972). Este grupo, del Instituto de la Seda en Lyon, se dedicó durante esta década a estudiar la adaptación funcional de los ARN de transferencia en el tejido glandular del gusano de seda (Chavancy, Daillie & Garel, 1971).

En Puerto Rico, mientras tanto, la investigadora Dra. Graciela Candelas, llevaba a su grupo de trabajo a las fronteras de la Biología Molecular. Esta investigadora y profesora distinguida de la Universidad de Puerto Rico, en Río Piedras, decide estudiar los mecanismos moleculares que regulan la síntesis de la seda, pero en este caso la que producen las arañas, la cual se conoce como espidroína. El organismo que adopta este grupo de investigadores puertorriqueños, al que he pertenecido por más de veinte años, es la araña *Nephila clavipes*. La araña hembra de esta especie es de mayor tamaño que el macho, alcanzando en su cefalo-torax la medida de una y media a dos pulgadas. *Nephila* produce una tela orbicular que se compone principalmente de seda. Esta proteína arácnida o espidroína es, debido a minúsculas variaciones en su

contenido de amino ácidos en relación a la del gusano de seda, más fuerte y elástica que la fibrosina de *Bombyx* (Arroyo et al., 1996).

Para finales de los años setenta, el grupo puertorriqueño descubre, al estudiar la seda que se produce en el epitelio secretor de las glándulas de *Nephila*, que la síntesis de espidroína ocurre como una traducción discontinúa (Candelas, Candelas & Ortiz, 1983). Este fenómeno en la síntesis de la seda arácnida es encontrado también en las glándulas de seda de *Bombyx* por los investigadores Paul Lizardi y Graciela Candelas en un trabajo que se originó en la Universidad de Rockefeller, Nueva York (Lizardi, Mahdavi, Dennis & Candelas, 1979).

Más adelante, al comenzar la década de los ochenta, el grupo de Lyon demuestra que la producción selectiva de ARN de transferencia en las glándulas de *Bombyx*, previo a la producción de la fibrosina, es crítica para una síntesis eficiente de esta proteína. Esto lo hicieron mediante estudios de síntesis de proteína en extractos libres de células (Chavancy, Marbaix, Huez & Cleuter, 1981).

En Puerto Rico, llevamos a cabo investigaciones con *Nephila* paralelas a aquellas que los franceses habían hecho en *Bombyx*. De esta manera, encontramos que para sintetizar la espidroína en un extracto libre de célula eficientemente era necesario suplementar al sistema con ARNs de transferencia propios de la araña (Candelas, Ortiz & Ortiz, 1988). Trabajos subsiguientes nos permitieron determinar que previo a la síntesis de la seda arácnida ocurre una adaptación funcional de los ARNs de transferencia en las glándulas de *Nephila*, tal como ocurre en *Bombyx* (Candelas, Arroyo, Carrasco & Dompenciel, 1990).

Para la década de los noventa diversos grupos a nivel mundial, que ya estaban trabajando en el estudio de los genes que codifican para diversos ARN de transferencia en el gusano de seda, colaboran con el grupo de la doctora Candelas, proveyéndonos genes de *Bombyx* que podíamos utilizar como sondas para la búsqueda de sus homólogos en el genoma de la araña. Además, nos asesoran en las modernas técnicas de ADN recombinante. En este momento Puerto Rico hace su entrada en el campo de la Ingeniería Genética.

El doctor Chavancy de Lyon, Francia, el doctor Gopinathan de Bombay, India y la doctora Spraque de Oregón se han convertido en nuestros consultores y más aún, son nuestros amigos.

Para finales de la década de los noventa, el grupo de Puerto Rico publica los primeros artículos sobre aislamiento, clonación y caracterización de genes de ARN de transferencia de *Nephila clavipes* (Cintrón, Capó, Plazaola, Arroyo & Candelas, 1999). Entrado el siglo 21, nuestro trabajo toma especial trascendencia al ser citado por grupos de investigadores interesados en producir espidroína mediante procesos biotecnológicos, con la intención de producir a nivel industrial esta proteína que es más fuerte que el acero y más elástica que el nilón.

En el 2002, la revista Science, publica un artículo en donde un grupo de investigadores de Canadá, dirigidos por el Dr. Anthoula Lazaris, informa los resultados de la producción de seda de *Nephila* en glándulas mamarias de cabra. Ellos obtienen como producto una seda de araña de menor tamaño a la natural y en un proceso de síntesis caracterizado por su baja eficiencia (Lazaris et al., 2002). Es aquí donde citan nuestro trabajo haciendo claro que durante la síntesis de seda, la araña produce pools

histo-específicos de ARN de transferencia para glicina y alanina, de manera que se provea para la demanda de estos amino ácidos limitantes (Candelas, Arroyo, Carrasco & Dompenciel, 1990), proceso que obviamente no ocurre en las glándulas mamarias de las cabras.

En enero de 2006, la doctora Candelas recibe junto a un saludo navideño del Dr. Gerard Chavancy y su grupo de Lyon, una invitación para colaborar en el desarrollo de un gusano de seda transgénico que fabrique seda de araña. Esto abre una nueva puerta, en este caso, hacia la Biotecnología.

La moraleja de esta historia, pues toda historia tiene una moraleja, es que existe un vasto mundo del cual podemos aprender y con el cual podemos compartir nuestro conocimiento.

La tabla a continuación presenta algunos aspectos científicos y técnicas en los que la Unión Europea se encuentra a la vanguardia.

Aspectos científicos en los que la Unión Europea se encuentra a la vanguardia	
España	Farmacología marina, reciclaje, bioética y análisis forense del ADN
Francia	Biotecnología
Alemania	Biotecnología
Italia	Biotecnología
Reino Unido	Biotecnología, Ciencias Forenses
Dinamarca	Recursos energéticos naturales (energía eólica)
Holanda	Manejo de desperdicios sólidos

Hemos visto también, a través de esta historia como la Dr. Graciela Candelas ha llevado durante más de treinta años, a su grupo de trabajo a desarrollar investigaciones

del más alto calibre. El anteponerse a visiones insularistas, le permite interrelacionarse de manera muy provechosa con investigadores a nivel internacional, entre ellos europeos. Su ejemplo debe guiar a los académicos a convertirnos, mediante nuestras investigaciones, en paradigmas para nuestros estudiantes y la comunidad en general, de manera que estimulemos la inventiva, la creatividad y la iniciativa. Esto, junto al conocimiento obtenido mediante la investigación, le permitirá al individuo la liberación del espíritu, tal como Don Jaime Benítez indicaba (1943), y esa libertad es muy poderosa.

Referencias

- Fernández, P. (2006). Historia y religión a través de la ruta de la seda. *Seda, Revista de Estudios Asiáticos*. http://www.revistaseda.com.ar/seda-01/nota_o2.htm
- Scoble, M.J. (1995). *The Lepidoptera: form, function and diversity*. Princeton University Press.
- Engels, L. (2007). *Bombyx mori the silkworm*. <http://www.cvmt.com/bombyxmoriUS.htm>
- Nagaraju, J. (2007). *Recent advances in molecular genetics of the silk moth, Bombyx mori*. *Current Science*, **78**:151-161.
- Johnson, G. (1996). *How scientist think*. WCB Publishers.
- Suzuki, Y. y Brown, D. (1972). Isolation and identification of the messenger RNA for silk fibroin from *Bombyx mori*. *J. Mol. Biol.* **63**:409-429.
- Chavancy, G., Daillie, J. y Garel, J. P. (1971). Adaptation fonctionnelle des tRNA a la biosynthese proteique dans un systeme cellulaire hautement differencie. *Biochimie* **53**:1187-1194.
- Arroyo, G. Capó, L., Cintrón, I., Plazaola, A., Vazquez, E. y Candelas, G. C. (1996). Las glándulas ampuladas mayores de *Nephila clavipes*. *Ciencia y Desarrollo* **126**:25-31.
- Candelas, G. C., Candelas, T. y Ortiz, A. (1983). Translational pauses during a spider fibroin synthesis. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **116**:1033-1038.

- Lizardi, P., Mahdavi, V., Dennis, S. y Candelas, G.C. (1979). Discontinuous translation of silk fibroin in a reticulocyte cell-free system and in intact silk gland cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **76**:6211-6215.
- Chavancy, G., Marbaix, G., Huez, G. y Cleuter, I. (1981). Effect of tRNA pool balance on the rate and uniformity of elongation during translation of fibroin mRNA in a reticulocyte cell-free system. Biochimie **63**:611-618.
- Candelas, G. C., Ortiz, A. y Ortiz, N. (1988) Features of the cell-free translation of a spider fibroin mRNA. Biochem. Cell Biol. **67**:173-176.
- Candelas, G. C., Arroyo, G., Carrasco, C. y Dompenciel, R. (1990). Spider silk glands contain a tissue-specific alanine tRNA that accumulates *in Vitro* in response to the stimulus for silk protein synthesis. Dev. Biol. **140**:215-220.
- Cintrón, I. Capó, L., Plazaola, A. Arroyo, G. and Candelas, G. C. (1999). A spider tRNA^{Ala} gene requires a far upstream element for expression Gene **231**:195-201
- Lazaris, A., Arcidicaono, S., Huang, Y., Zhov, J-F., Duguay, F., Chretien, N., Welsh, E., Soares, J. y Karatzas, C.N. (2002) Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells. Science **295**:472-476.
- Benítez, J. (2004) La reforma universitaria, discurso de instalación, febrero de 1943. Revista de Estudios Generales **16**:10-24.